

J. Clin. Chem. Clin. Biochem.
Vol. 16, 1978, pp. 315–316

KURZMITTEILUNG

Serumeisenbestimmung; Methodenvergleich Atomabsorption/Bathophenanthrolin ohne Enteiweißung

Von K. Lauber

Medizinisch-chemisches Institut der Universität Bern,
Schweiz

(Eingegangen am 24. Oktober 1977/9. Januar 1978)

Zusammenfassung: Zwei Methoden zur Ermittlung der Serum-eisen-Konzentration werden verglichen: I. Bestimmung mittels Atomabsorption nach Enteiweißung; II. Spektrophotometrische Bestimmung nach Freisetzung des Eisens mit Detergens, Reduktion mit Dithionit und Chelierung mit Bathophenanthrolin-disulfonat, ohne Enteiweißung.

Ergebnisse: Regression: $y = 0,995x - 0,41$ (x: Atomabsorption; y: Spektrophotometrie; $\mu\text{mol/l Fe}$); $r = 0,986$. Präzision in der Serie (VK) für $14,3 \mu\text{mol/l}$: 2,0% für Atomabsorption und 1,3% für Spektrophotometrie.

Determination of serum iron; a comparison of two methods: atomic absorption and bathophenanthroline without deproteinisation

Summary: Two methods for the assay of serum iron are compared: determination by atomic absorption after deproteinisation, and spectrophotometric determination after liberation of the iron by a detergent, reduction with dithionite, and chelation with bathophenanthroline disulfonate, without deproteinisation. Results: Regression: $y = 0,995x - 0,41$ (x: atomic absorption; y: bathophenanthroline method; $\mu\text{mol/l Fe}$); $r = 0,986$. Precision (CV) for a series of identical samples with $14,3 \mu\text{mol/l}$: 2,0% for atomic absorption and 1,3% for bathophenanthroline.

Einführung

Bei der Ermittlung von Serumeisen-„Sollwerten“ für einen Ringversuch wurde eine Referenzmethode gesucht. Dies gab den Anstoß, die bei uns seit 14 Jahren praktizierte und in zahlreichen Modifikationen weit verbreitete Bathophenanthrolin-methode mit einer Atomabsorptionsmethode zu vergleichen.

Material und Methoden

Untersucht wurden 105 Patientenseren, teils mit, größtenteils ohne Anaemieverdacht. Als Standard diente für beide Methoden dieselbe Eisen-Lösung von $17,9 \mu\text{mol/l}$ ($100 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$), hergestellt durch Auflösen von reinem Eisen in Salzsäure.

Methode I (Atomabsorption) folgt im wesentlichen dem Manual zum Flammenphotometer: 2 ml Serum, bzw. Standard, bzw. Wasser mit 1 ml Säurereagens ($0,5 \text{ mol/l HCl} + 1 \text{ g/l Ascorbinsäure}$) mischen und 5 min stehen lassen; 1 ml Trichloressigsäure (200 g/l) zusetzen; Serumproben nach 15 min zentrifugieren; 2,5 ml vom Serum-Überstand bzw. von Standard- und Leerprobe mit 0,5 ml Aceton mischen; photometrieren auf Atomabsorptions-Flammenphotometer UNICAM SP 1900.

Methode II (Spektrophotometrie) hält sich an das in dieser Zeitschrift beschriebene Verfahren (1): Ablösen des Eisens vom Transferrin mit Teepol 610 (Shell); Reduktion mit N-dithionit; Messen der Eigenabsorption bei 546 nm; Komplexieren mit Bathophenanthrolin-disulfonat; Messen der Chelat-Absorption bei 546 nm (Eppendorf-Photometer).

Ergebnisse

Tabelle 1 zeigt die gefundenen Wertepaare, gruppiert nach „normalen“, lipämischen, hämolytischen und ikterischen Seren. Die mit Atomabsorption ermittelten Konzentrationen sind für das ausgefällte Eiweiß korrigiert (alle Meßwerte um 5% reduziert (2)). Abbildung 1 gibt die Korrelation der beiden Methoden wieder. Mittelwerte und Standardabweichungen in $\mu\text{mol/l}$

Tab. 1. Eisenbestimmung mit Atomabsorption nach Enteiweißung und spektrophotometrisch mit Bathophenanthrolin ohne Enteiweißung in 105 Patientenseren; Konzentration in $\mu\text{mol/l}$; l = lipämisches, h = hämolytisches, i = ikterisches Serum.

Fe [$\mu\text{mol/l}$]		Fe [$\mu\text{mol/l}$]		Fe [$\mu\text{mol/l}$]	
Atom-absorption	Bathophenanthrolin	Atom-absorption	Bathophenanthrolin	Atom-absorption	Bathophenanthrolin
22,0	21,5	14,7	14,3	16,3	15,2
15,2	15,4	12,7	12,9	21,5	21,5
7,3	7,2	15,0	13,8	19,5	18,8
9,7	10,2	14,3	12,4	14,0	14,0
13,1	13,8	8,6	6,8	5,9	5,2
37,6	36,9	17,4	15,4	21,1	21,7
5,4	5,6	15,9	14,9	21,3	21,3
14,9	14,5	15,6	15,6	17,7	17,7
17,4	18,8	10,4	9,7	15,0	15,6
12,9	13,1	12,0	11,8	19,2	19,2
9,8	10,2	7,2	7,0	19,0	20,1
20,4	20,1	18,4	18,4	11,3	9,8
10,6	10,4	7,3	9,5	16,5	17,0 l
10,6	9,8	17,0	17,7	16,5	16,5 l
16,7	15,4	21,7	20,1	12,0	12,4 l
10,9	9,8	17,5	18,3	10,9	11,3 l
16,5	14,5	15,8	15,0	15,8	14,9 l
15,6	13,8	20,2	19,0	8,6	9,1 l
8,4	5,9	20,4	19,5	17,7	17,2 l
19,5	18,3	17,4	16,3	13,1	14,3 l
8,2	7,3	21,8	20,4	10,9	10,0 l
12,7	12,2	15,9	14,3	17,5	17,2 l
23,8	21,8	14,9	13,6	14,5	14,5 l
22,9	22,0	14,1	12,4	20,8	19,7 h
13,6	12,4	16,7	15,2	18,3	18,8 h
15,4	14,0	5,7	5,0	14,0	14,7 h
17,4	15,9	21,0	20,1	16,1	14,0 h
13,8	13,6	21,7	21,0	12,0	10,9 h
15,0	14,0	17,2	16,3	23,6	23,3 h
16,8	16,3	11,6	10,9	12,2	10,7 h
15,6	14,3	16,1	15,4	14,1	14,1 i
16,3	16,7	21,5	22,7	20,4	19,7 i
9,3	9,1	19,2	19,0	12,5	11,5 i
18,1	17,0	12,5	11,3	19,3	20,1 i
35,1	35,3	9,5	8,8	18,4	19,2 i

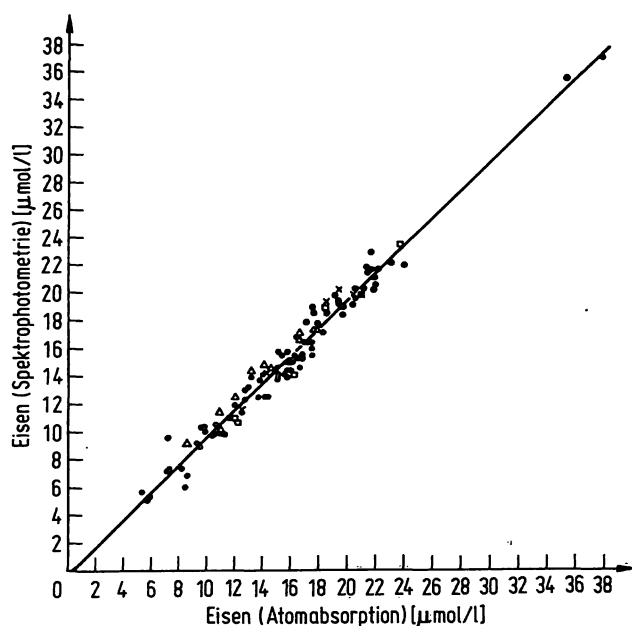


Fig. 1. Methodenvergleich: Serumeisenbestimmung mit Atomabsorption nach Enteiweißung (x) und spektrophotometrisch mit Bathophenanthrolin ohne Enteiweißung (y); • gewöhnliche Seren, Δ lipämische Seren, □ hämolytische Seren, x ikterische Seren. $y = 0,995x - 0,41$; $r = 0,986$.

sind für das gesamte Patientenkollektiv $15,7 \pm 5,2$ für Atomabsorption und $15,2 \pm 5,2$ für Spektrophotometrie. Der Korrelationskoeffizient ist $r = 0,986$, die Regressionsgerade $y = 0,995x - 0,41$ (x: Atomabsorption, y: Spektrophotometrie).

Mit je 20 Bestimmungen aus dem gleichen Poolserum mit $14,3 \mu\text{mol/l Fe}$ wurde die Präzision in der Serie ermittelt. Der Variationskoeffizient ist für Atomabsorption 2,0%, für Spektrophotometrie 1,3%. Ein Vergleich der einzelnen Wertepaare zeigt, daß bei lipämischen, hämolytischen und ikterischen Proben kaum größere Unterschiede zwischen den beiden Methoden auftreten als beim Gesamtkollektiv. Die Analysenzahl ist für die anormalen Seren zu klein für eine sinnvolle Statistik.

Die gefundenen Daten erlauben den Schluß, daß sich Atomabsorption und spektrophotometrische Methode zur Serumeisenbestimmung für klinische Zwecke gegenseitig vertreten können. Wegen des geringeren Arbeits- und Apparatenaufwands und des kleineren Serumbedarfs ist die Bathophenanthrolinmethode im Vorteil.

Literatur

1. Lauber, K. (1965), diese Z. 3, 96–99.
2. Bürgi, W. (1969), diese Z. 7, 458–460.

Dr. Konrad Lauber
Medizinisch-chemisches Institut
Universität Bern
Bühlstraße 28
CH-3012 Bern